

Débora Susane Bieger

**AVALIAÇÃO DA POPULAÇÃO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS
EM LESÕES HIPERPLÁSICAS, DISPLÁSICAS E
NEOPLÁSICAS DA PRÓSTATA**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Centro de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do
Grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Otávio
Alves de Lima

Coorientador: Prof. Dr. Rogério de
Oliveira Gondak.

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Bieger, Debora Susane

Avaliação da população de células dendríticas em lesões hiperplásicas, displásicas e neoplásicas da próstata. / Debora Susane Bieger ; orientador, Rodrigo Otávio Alves Lima, coorientador, Rogério de Oliveira Gondak, 2017.

70 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Hiperplasia Benigna Prostática. 3. Neoplasia Intraepitelial Prostática. 4. Adenocarcinoma Prostático. 5. Células Dendríticas. I. Lima, Rodrigo Otávio Alves. II. Gondak, Rogério de Oliveira. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Débora Susane Bieger

**AVALIAÇÃO DA POPULAÇÃO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS
EM LESÕES HIPERPLÁSICAS, DISPLÁSICAS E
NEOPLÁSICAS DA PRÓSTATA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para
obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas e aprovado em
sua forma final pelo Centro de Ciências Biológicas

Florianópolis, 15 de Agosto de 2017.

Prof. Carlos Roberto Zanetti, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Rodrigo Otávio Alves de Lima, Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Sara Emelie Löfgren, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Filipe Modolo Siqueira, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho à minha família,
meu porto seguro, e ao André, meu
parceiro.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Rodrigo Otávio Alves de Lima e Rogério de Oliveira Gondak, pela confiança, pela compreensão, pelo conhecimento repassado e pelo tempo dedicado que foram imprescindíveis para o êxito deste trabalho.

À amiga e colega Ana Guadalupe Gama Cuellar, pela paciência e disposição em ensinar e ajudar sempre que necessário.

Aos técnicos e estagiários do HU-UFSC que cederam espaço e material para a coleta de dados.

Aos pacientes do HU - UFSC que participaram desta pesquisa.

Ao Laboratório de Patologia Bucal, técnica Sônia e responsáveis, por ceder o espaço e materiais necessários para a execução da parte experimental desta pesquisa.

Ao corpo técnico do LAMEB, em especial, Chirle, pela disposição de equipamentos necessários e conhecimento compartilhado para a análise do experimento, pela confiança em ceder o espaço para que o trabalho fosse escrito e pelo apoio emocional, algumas vezes necessário.

À banca examinadora, pela atenção e tempo dedicado.

Aos colegas e professores que, de alguma maneira, contribuíram com conhecimento e apoio durante todo o curso de graduação.

Ao professor Carlos Pinto, pela compreensão e empenho em resolver os problemas, sem deixar o bom humor de lado.

A meus pais, pelo apoio, dedicação, confiança e amor incondicional.

Aos amigos, sempre os mesmos.

Ao meu companheiro André, por estar sempre ao meu lado.

“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido. Agora é hora de compreender mais para temer menos”.

(Marie Curie)

RESUMO

As células dendríticas (CDs) são originadas de precursores mielóides e linfóides e desempenham um papel essencial na regulação da resposta imune antitumoral. Acredita-se que fatores derivados de tumor tenham influência imunossupressora sobre estas células, inibindo seu amadurecimento ou induzindo sua apoptose. O objetivo deste estudo foi identificar e quantificar, por meio de reações imuno-histoquímicas, CDs imaturas (CD1a+) e maduras (CD83+) em amostras de Hiperplasia Prostática Benigna (HPB; Grupo 1, n=10), Neoplasia Intraepitelial Prostática (NIP, Grupo 2, n=10) e Adenocarcinoma Prostático (CaP; Grupo 3, n=10) e correlacionar com os achados clínicos dos pacientes. Entre os pacientes, a média de idade foi $61,45 \pm 7,154$, sendo que a maioria dos pacientes estudados eram de etnia branca (90%) e fumantes (60%). Todos pacientes diagnosticados com CaP estavam estadiados em Grau I ou II. Em NIP, as populações de CDs CD1a+ foram superiores à HPB e CaP ($P=0,002$ e $P=0,012$, respectivamente) e CD83+ teve diferenças estatísticas quando NIP foi comparado com CaP ($P=0,025$). Não houve correlação com os parâmetros clínicos estudados ($P>0,05$). A relação entre CDs e CaP sugere uma imunossupressão causada pelo processo tumoral e pode colaborar como ferramenta para avaliação de risco de neoplasias prostáticas e desenvolvimento de imunoterapias baseadas em CDs.

Palavras-chave: Células Dendríticas, Próstata, Neoplasias

ABSTRACT

Dendritic Cells (DCs) are originated from myeloid and lymphoid precursors and play an essential role in the immune response regulation. It is believed that tumor-derived factors have an immunosuppressive influence on these cells, inhibiting the maturation or inducing the apoptosis. The aim of this study was identify and quantify, through immunohistochemical reactions, immature (CD1a+) and matures CD83+ CDs in samples with Benign Prostatic Hyperplasia (BPH, Group 1, n=10), Prostatic Intraepithelial Neoplasia (PIN, Group 2, n=10) and Prostatic Adenocarcinoma (CaP, Group 3, n=10) and correlate them with the patients's clinical findings. The mean age of the patients was $61,45 \pm 7,154$. The majority of the patients were white (90%) and smokers (60%). All the patients with CaP was with the disease in the stage I or II. In PIN, the DCs CD1a+ populations were superior in relation to HPB and CaP ($P=0,002$ and $P=0,012$, respectively), and CDs CD83+ population had statistic differences only when PIN was compared to CaP ($P=0,025$). There was no correlation with the clinical parameters studied ($P>0,05$). The relationship between DCs and CaP suggests an immunosuppression caused by the tumoral process and can collaborate as a tool to evaluate the risk of prostatic neoplasia and development of DCs-based immunotherapy.

Keywords: Dendritic Cells, Prostate, Neoplasia.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Tecido prostático com HPB. A: coloração H&E; B: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD1a+; C: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD83+ (magnificação 400x)..... 44
- Figura 2 - Tecido prostático com NIP. A: coloração H&E; B: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD1a+; C: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD83+ (magnificação 400x)..... 45
- Figura 3 - Tecido prostático com CaP. A: coloração H&E; B: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD1a+; C: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD83+ (magnificação 400x)..... 46
- Figura 4 - Gráfico mostrando a distribuição dos resultados positivos para CD1a por mm² nos grupos com HPB, NIP e CaP 50
- Figura 5 - Gráfico mostrando a distribuição dos resultados positivos para CD83 por mm² nos grupos com HPB, NIP e CaP 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise descritiva dos achados clínicos e histológicos dos pacientes participantes da pesquisa47

Tabela 2 - CDs positivas por mm^2 para CD1a (média \pm desvio padrão) e CD83 (média \pm desvio padrão) em Hiperplasia Prostática Benigna (HPB), Neoplasia Intraepitelial Prostática (NIP) e Adenocarcinoma de Próstata (CaP)49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

INCA – Instituto Nacional do Câncer
HPB – Hiperplasia Prostática Benigna
NIP – Neoplasia Intraepitelial Prostática
CaP – Adenocarcinoma de Próstata
DHT – Di-hidrotestosterona
IGF – *Insulin-like Growth Factor*
LUTS – *Low Urinary Tract Symptoms*
PSA – *Prostate Specific Antigen*
CDs – Células Dendríticas
APCs – *Antigen Presenting Cells*
MHC – *Mainly Histocompatibility Complex*
IL – Interleucina
VEGF – *Vascular Endothelial Growth Factor*
CEPSH – Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina
HU – Hospital Universitário
SAP – Serviço de Anatomia Patológica
H&E – Coloração Hematoxilina & Eosina
LPB – Laboratório de Patologia Bucal
CCS – Centro de Ciências da Saúde
LAMEB – Laboratório Multiusuário em Estudos de Biologia
CCB – Centro de Ciências Biológicas
API – Atrofia Proliferativa Inflamatória
Th – Linfócito T *helper*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	29
1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO	29
1.2	A PRÓSTATA.....	29
1.2.1	Lesões da Próstata	30
1.2.1.1	Hiperplasia Prostática Benigna.....	30
1.2.1.2	Neoplasia Intraepitelial Prostática	31
1.2.1.3	Adenocarcinoma Prostático	32
1.3	CÉLULAS DENDRÍTICAS.....	35
1.3.1	Relação das Células Dendríticas com Adenocarcinoma Prostático	36
2	JUSTIFICATIVA	37
3	HIPÓTESE	38
4	OBJTIVOS	38
4.1	OBJETIVO GERAL.....	38
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
5	MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1	ASPECTOS ÉTICOS	39
5.2	DELINEAMENTO.....	39
5.3	COLETA DE DADOS	39
5.4	DESENHO EXPERIMENTAL E COLETA DE MATERIAL 39	
5.5	REAÇÕES IMUNO-HISTOQUÍMICAS.....	40
5.6	AVALIAÇÃO DA IMUNORREATIVIDADE	42
5.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	43
6	RESULTADOS	43
7	DISCUSSÃO	51
8	CONCLUSÃO.....	55
	REFERÊNCIAS.....	56
	APÊNDICE	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

Atualmente, são mais de 12 milhões de pessoas diagnosticadas com algum tipo de câncer no mundo e os números de casos aumentam a cada ano; desta estimativa, pelo menos 8 milhões de pacientes vão à óbito (INCA, 2015). No Brasil, o INCA (2015) estima cerca de 420 mil casos novos para o biênio 2016-2017, sendo a segunda maior causa de morte com 190 mil óbitos por ano. Entre os diferentes tipos, o câncer de próstata é a segunda neoplasia mais incidente na população masculina, com 60 mil novos casos por ano, sendo que 1 a cada 36 homens diagnosticados morrem da doença (INCA, 2015).

1.2 A PRÓSTATA

Pertencendo ao grupo das glândulas sexuais acessórias masculinas, a próstata está localizada na base da bexiga, em frente ao reto e em torno da uretra e dos ductos ejaculatórios (BURTON et al., 2010), pesa em torno de 20g e tem dimensões normais médias de 4 cm de largura x 3 cm de comprimento x 2 cm de espessura (WATANABE et al., 1974). Sua função é produzir o líquido prostático que representa 30% do sêmen e auxilia na sobrevivência, motilidade e função do esperma (OWEN e KATZ, 2005).

A próstata é uma glândula heterogênea multilobulada e encapsulada por tecido conjuntivo fibroso e músculo liso, dividida internamente por 4 zonas morfolologicamente distintas: a zona central, a zona de transição, a zona periférica e a zona de estroma fibromuscular (McNEAL, 1981; SHAPPELL et al., 2004). O estroma fibromuscular não apresenta tecido glandular e está localizado anteriormente; a zona de transição representa apenas 5% do volume da glândula e envolve a parte proximal da uretra prostática; a zona central circunda os ductos ejaculatórios e a zona periférica, que representa 70% do volume prostático, envolve todas as zonas (SHAPPELL et al., 2004). Cada zona possui diferenciações biológicas e histológicas, sendo a zona de transição o principal sítio de origem de hiperplasias (LEPOR, 2004) e a zona periférica a região mais frequentemente acometida pelo câncer prostático (McNEAL, 1992).

Formada por glândulas tubuloalveolares ligadas à luz da uretra prostática, a próstata produz e secreta o líquido prostático, que protege o

esperma das secreções vaginais ácidas; é pobre em proteínas, mas rico em enzimas proteolíticas e hidrolíticas, eletrólitos, ácido cítrico, zinco, magnésio, espermina, colesterol, fosfolípidos, fibrinogenase (que forma fibrina para coagulação do sêmen durante a ejaculação) e fibrinolisinase (que degrada a fibrina depois da ejaculação, tornando o sêmen com aspecto mais líquido para melhor motilidade do esperma) (WHO, 1992; OWEN e KATZ, 2005).

1.2.1 Lesões da Próstata

Algumas das principais causas de morbidade e mortalidade em homens são as lesões relacionadas à glândula prostática. A Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) clínica, que apresenta sintomas, afeta por volta de 50%, da população masculina a partir dos 60 anos (PATEL e PARSONS, 2014), HPB citológica - sem sintomas - tem uma prevalência um pouco maior, mais de 60% em homens a partir dos 60 anos de idade (ROEHRBORN, 2005).

Outra condição que acomete o tecido prostático é a Neoplasia Intraepitelial Prostática (NIP), conhecida pela sua condição pré-neoplásica (AMIN; RO; AYALA, 1993) que atinge 47,3% da população masculina norte-americana a partir da sexta década de vida (BOSTWICK et al., 2004). O câncer de próstata (CaP), que representa 28,6% dos casos de câncer no Brasil, é o câncer que mais acomete a população masculina (excluindo câncer não melanoma) (INCA, 2015) e no mundo é o segundo câncer mais comum entre homens (BURTON et al., 2010), sendo a neoplasia que apresenta o maior número de novos casos por ano devido principalmente ao aumento da expectativa de vida da população e à melhoria dos métodos diagnósticos (SFANOS e DE MARZO, 2012).

1.2.1.1 Hiperplasia Prostática Benigna

A HPB é um crescimento anormal e não maligno da próstata (ROEHRBORN, 2005; PARSONS et al., 2006; GUNEYLI et al., 2016), tanto da zona glandular como da zona de estroma (GUNEYLI et al., 2016). Esta hiperplasia, que consiste no aumento numérico das células com a manutenção do seu controle proliferativo e seu padrão funcional, está relacionada com a testosterona e seu metabólito di-hidrotestosterona (DHT) e com a idade dos pacientes. Apesar de não haver evidências claras do seu mecanismo de indução, acredita-se que a DHT, formada a partir da conversão da testosterona pela isoenzima 5 α -redutase na

próstata, regule o crescimento e manutenção do epitélio e das células do estroma da glândula prostática, induzindo o tecido a se tornar hiperplásico não somente pelo aumento no número de células, mas também pela inibição ou redução da morte celular (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013; JARVIS; CHUGHTAI; KAPLAN, 2015). No fator idade, o desenvolvimento de HPB inicia a partir dos 40 anos na maioria dos homens (ROEHRBORN, 2005). Estima-se que a prevalência de HPB em homens de 30 anos seja de 10%, 20% aos 40 anos, 50-60% em homens com 60 anos e até 90% em homens a partir dos 70 anos de idade (ZIADA; ROSENBLUM; CRAWFORD, 1999).

Apesar da etiologia da HPB ainda não ser bem compreendida, existem alguns fatores de risco associados e algumas hipóteses aceitas, como a idade, histórico familiar, uso do cigarro, obesidade e falta de atividade sexual (ROEHRBORN, 2005). Outros estudos também sugerem que o Fator de Crescimento Semelhante à Insulina I e II (IGF-I e II) também atuem sobre o crescimento da glândula *in vitro*, embora IGF-II seja mais ativo na patogênese de HPB (MONTI et al., 1998).

Esse aumento do tamanho da próstata pode causar sintomas que são denominados *LUTS* (*Lower Urinary Tract Symptoms*). Estes sintomas aumentam com o avanço da idade e tem características obstrutivas e irritativas. Entre os sintomas obstrutivos estão o fluxo fraco de urina, a micção prolongada e com esforço, retenção parcial ou total de urina e até incontinência urinária, enquanto que os sintomas irritativos são a frequência e a urgência para urinar, pouco volume de urina e noctúria (ROEHRBORN, 2005). No entanto, nem todos os homens com HPB desenvolvem LUTS, assim como nem todo homem com os sintomas descritos em LUTS tem HPB (ROEHRBORN, 2005).

Além dos sintomas descritos acima, o aumento da próstata pode bloquear a saída de urina da bexiga e causar complicações secundárias graves, como a formação de cálculos e infecções, a deterioração do trato urinário (como a hidronefrose) (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2013), a falência renal pelo mau funcionamento da bexiga (ROEHRBORN, 2005) e, inclusive, o desenvolvimento de câncer de bexiga (LEPOR, 2004).

1.2.1.2 Neoplasia Intraepitelial Prostática

As lesões displásicas da próstata, também chamadas de Neoplasia Intraepitelial Prostática (NIP), são caracterizadas por proliferações celulares e mudanças citológicas nos ductos prostáticos que mimetizam as modificações morfológicas apresentadas no carcinoma invasivo (KIM

e YANG, 2002; BOSTWICK et al., 2004). A NIP é classificada em dois tipos: baixo grau e alto grau (BOSTWICK, 1989). A NIP de alto grau, amplamente estudada pela sua condição pré-neoplásica (AMIN et al., 1993), pode se apresentar em quatro diferentes padrões de lesões que são utilizados apenas para fim de diagnóstico: papilar (que apresenta arranjos alongados), cribriforme (também chamado de forma de peneira), achatada e em tufos (BOSTWICK, et al. 2004). O arranjo estrutural presente em NIP de baixo grau é apresentado por proliferação de células epiteliais com espaçamento irregular entre as células (GOEMAN et al., 2003).

JONIAU e colaboradores (2005) observaram que homens mais jovens são acometidos por lesões de baixo grau de NIP, enquanto que há uma maior incidência de lesões de alto grau em homens mais velhos (PATEL e PARSONS, 2014), sugerindo, dessa maneira, que existe um desenvolvimento da doença com o passar da idade. Da mesma forma, lesões de alto grau de NIP têm sido consideradas precursoras pré-malignas de adenocarcinoma prostático por quatro principais motivos: I. Ambas as lesões são vistas em associação (McNEAL e BOSTWICK, 1986); II. A prevalência de alto grau de NIP e adenocarcinoma prostático aumenta com a idade (SAKR et al., 2000); III. Ocorrerem principalmente na zona periférica da próstata (DE LA TORRE et al., 1993) e IV. Tanto o alto grau de NIP quanto o adenocarcinoma de próstata apresentam características similares de proliferação celular, aneuploidia e angiogênese (BOSTWICK; PACELLI; LOPEZ-BELTRAN, 1996).

1.2.1.3 Adenocarcinoma Prostático

Dados do INCA (2015) mostram que CaP é a segunda neoplasia mais comum em homens no Brasil e no mundo - atrás apenas do câncer de pele não-melanoma - representando em torno de 6% do total de mortes por câncer anualmente, ou seja, aproximadamente 12 mil óbitos. No Brasil, a estimativa para 2016 era de 61.200 novos casos de CaP, o que corresponde a um cálculo de aproximadamente 61 novos casos para cada 100 mil homens (INCA, 2015). Assim como HBP e NIP, a incidência de CaP também aumenta com a idade, sendo que a probabilidade de um homem de até 40 anos desenvolver a neoplasia é de 1 em 19.299, aumentando para 1 em 45 em homens de até 60 anos e 1 chance em 7 para homens de até 80 anos de idade (JEMAL et al., 2006).

Segundo o CANCER RESEARCH SOCIETY (2017), existem variantes histomorfológicas do câncer de próstata, como Carcinoma

Prostático de Pequenas Células (ou neuroendócrino), mais raro (apenas 1% dos casos de câncer de próstata) e extremamente agressivo, não apresenta alterações nos níveis de PSA, o que dificulta sua detecção; o Carcinoma Prostático de Células Escamosas é não glandular, agressivo e também não altera os níveis de PSA; o Carcinoma Prostático de Células Transicionais é um câncer que raramente se desenvolve na próstata, mas é acometido por tumores primários da bexiga ou uretra; o Sarcoma prostático, o mais raro de todos, (menos de 0,1% de todos os casos de câncer de próstata), ocorre em homens jovens, dos 35 aos 60 anos e, geralmente, o diagnóstico já é acompanhado de metástase. No entanto, o câncer de próstata mais comum é o Adenocarcinoma prostático (ocorrendo em 95% dos casos), atinge as células glandulares e, por isso, pode alterar os níveis de PSA; tem crescimento vagaroso e seu diagnóstico precoce trás um bom prognóstico (CANCER RESEARCH SOCIETY, op. cit.). Neste trabalho, apenas o adenocarcinoma prostático (CaP) será considerado.

Fatores de risco como histórico familiar (NELSON et al., 2004; PATEL e KLEIN, 2009), inflamações (NELSON et al., 2004; DE MARZO et al., 2007; HORI; BUTLER; McLOUGHLIN, 2011), dieta (HORI; BUTLER; McLOUGHLIN, 2011) e obesidade (BURTON et al., 2010) também têm se mostrado correlacionados à incidência da doença. A etnia também está associada como fator de risco (BEN-SHLOMO et al., 2008); o CaP está diferentemente distribuído entre os grupos étnicos e países ao redor do mundo. China, Índia e Japão apresentam os menores números de casos na população, enquanto que norteamericanos afrodescendentes apresentam os maiores índices de novos casos por ano (QUINN e BABB, 2002). No entanto, mostrou-se que o risco de CaP em populações asiáticas que vivem nos Estados Unidos da América aumenta consideravelmente, o que indica que fatores externos também desempenham um papel importante no desenvolvimento da doença (GRÖNBERG, 2003).

Outro fator de risco importante associado ao CaP são os hormônios sexuais, relatados como possíveis otimizadores da neoplasia. A DHT, também associada ao crescimento hiperplásico da próstata, é o principal “combustível” para o desenvolvimento de adenocarcinomas (PETROW, 1986; MONTI et al., 1998; ROEHRBORN, 2005). E o estrogênio, formado a partir da aromatização da testosterona do tecido adiposo, especialmente em casos de obesidade, causa um desequilíbrio dos hormônios sexuais e potencializa o crescimento de tumores (HAUTANEN, 2000; SHIBATA et al., 2000).

Ainda que a taxa de mortes tenha diminuído substancialmente na última década, a incidência de CaP tem aumentado devido ao aumento da expectativa de vida e envelhecimento da população (SFANOS e DE MARZO, 2012) e também pela melhoria dos métodos diagnósticos, como dosagem de *PSA* (*Prostate Specific Antigen*) e maior aceitação e adesão ao exame de toque retal (INCA, 2015). Os sistemas de classificação de estágio clínico-patológico das neoplasias também têm importância no sucesso do tratamento dos pacientes, pois auxilia o médico a escolher tratamentos mais específicos, de acordo com o estágio patológico do tumor.

De acordo com *AMERICAN CANCER SOCIETY* (2017), o sistema de classificação de tumores malignos pTNM refere ao estadiamento patológico do tumor e está dividido em 3 categorias: I. Características do tumor primário (T); II. Linfonodos ligados ao sistema de drenagem da glândula foram ou não acometidos pela neoplasia (N) e III. Linfonodos distantes ou outros órgãos apresentam metástase ou não (M). Estas três divisões possuem graduação alfanumérica TX, T0, T1-T4, NX, N0, N1-N3 e MX, M0-M1 (onde X representa “não pode ser avaliado”, 0 representa “não há evidência” e os números representam o tamanho e extensão do tumor em ordem crescente) e alfabéticas (a, b e c) que expressam o nível de evolução do tumor e dos linfonodos acometidos; um exemplo de laudo de estadiamento patológico é pT2c, pN0, pM0, que indica que o tumor está presente nos dois lados da próstata, sem linfonodos acometidos e sem metástase (*AMERICAN CANCER SOCIETY*, op. cit.). A escala de Gleason, uma escala feita para classificar o tumor em relação à sua agressividade (probabilidade de crescer e se espalhar para além da próstata), utiliza números de 1-5 que indicam a diferenciação celular do tumor em relação ao tecido normal da próstata (1 – pouco diferente e 5 – muito diferente) (*NATIONAL CANCER INSTITUTE*, 2017); além disso, são feitas duas medidas, a primeira indica o padrão de diferenciação predominante no tumor e a segunda, o padrão secundário, que pode ser o segundo padrão mais frequente ou o de maior grau de diferenciação encontrado (*PROSTATE CANCER UK*, 2017). Assim, se um tumor é caracterizado como Gleason 7 (3+4), por exemplo, indica que o grau de maior diferenciação do tumor presente na próstata é 3, mas existe pontos de grau 4 (*AMERICAN CANCER SOCIETY*, op. cit.).

Além dessas duas classificações, uma classificação mais abrangente, que combina Escala Gleason, pTNM e níveis de PSA, também foi formulada para agrupar os tumores. A classificação é expressa em algarismos romanos (I, II, III e IV) e ajuda o médico a

escolher a melhor opção de tratamento para um melhor prognóstico do paciente (*AMERICAN CANCER SOCIETY*, 2017).

1.3 CÉLULAS DENDRÍTICAS

As Células Dendríticas (CDs) fazem parte do aparato imunológico do corpo humano e têm sua origem na medula óssea, a partir de células-tronco hematopoiéticas (MILLER et al., 2002). São consideradas “pontes” celulares entre a resposta imunológica inata e adaptativa (LUFT et al., 2002), atuando como as células apresentadoras de antígenos (*APCs - antigen presenting cells*) mais eficazes do sistema imunológico (HAYATI e ZULKARNAEN, 2007), especialmente por causa da sua excelente mobilidade entre os tecidos (STEINMAN, 1991). Estão localizadas em tecidos linfoides e não linfoides, principalmente em locais de interação entre o organismo e o meio externo, como sangue e linfonodos, baço, pele, sistema gastrointestinal e respiratório (PACHIADAKIS et al., 2005).

Segundo Banchereau et al (2000), as CDs são encontradas em duas formas, imaturas e maduras, que se distinguem tanto em seu fenótipo quanto em sua função. Na medula óssea, as células progenitoras transformam-se em CDs imaturas, que circulam pela corrente sanguínea até os tecidos periféricos formando uma rede de monitoramento nos ambientes epiteliais e epidermais que analisa o microambiente em busca de danos no tecido e ruptura de barreiras e identificam e capturam antígenos invasores ou estranhos (BANCHEREAU e STEINMAN, 1998; HO et al., 2001; IGYARTO e KAPLAN, 2010; ROMANI; CLAUSEN; STOITZNER, 2010).

Após a captura dos antígenos, as CDs imaturas encaminham-se para os linfonodos onde iniciam o processo de maturação celular, perdendo sua habilidade endocitária e se transformando CDs maduras, ou APC, aumentando, assim, a expressão de peptídeos do complexo MHC (*Main Histocompatibility Complex*) de classe I e II, regulando a expressão de moléculas de adesão e moléculas coestimulatórias, como CD1a e CD83 (AERTS-TOEGAERT et al., 2007) e secretando citocinas inflamatórias, o que ativa as células T que desencadeiam a resposta imune no hospedeiro (PINZON-CHARRY; MAXWELL; LÓPEZ, 2005).

A molécula CD1a pertence à uma família de glicoproteínas transmembrana que forma heterodímeros com a beta-2-microglobulina, uma proteína transmembrana do Complexo MHC I (Mumtaz et al., 2010), e estão envolvidas na ativação do Linfócito T, apresentando

antígenos lipídicos e glicolipídicos (COVENTRY e HEINZEL, 2004) A glicoproteína CD83 pertence à superfamília Ig de imunoglobulinas e representa um importante marcador de maturação das CDs; sua provável função está ligada à modulação da apresentação de antígenos e consequente ativação de Linfócitos T CD4+ (CAO; LEE; LU, 2005; AERTS-TOEGAERT et al., 2007).

1.3.1 Relação das Células Dendríticas com Adenocarcinoma Prostático

As CDs são as *APCs* de maior eficácia do sistema imunológico por desencadear respostas imunes inatas e específicas, inclusive respostas imunes antitumorais (HAYATI e ZULKARNAEN, 2007). Segundo PINZON-CHARRY et al. (2005), o primeiro passo para que ocorra uma resposta antitumoral efetiva é o reconhecimento do tumor pelas CDs imaturas. Depois do reconhecimento, as CDs são ativadas e outras células especializadas do sistema imune são recrutadas, como macrófagos, eosinófilos e *natural killers*; o próximo passo é a captura de antígenos tumorais e subsequente apresentação desses antígenos aos Linfócitos T, que são ativados e promovem a resposta antitumoral, combatendo as células malignas (PINZON-CHARRY; MAXWELL; LÓPEZ, 2005).

No entanto, muitas vezes o tumor consegue “enganar” o sistema imune do hospedeiro suprimindo o elemento chave da resposta antitumoral (PIRTSKHALAISHVILI, et al., 2000), ou seja, impedindo o amadurecimento das CDs (PINZON-CHARRY; MAXWELL; LÓPEZ, 2005) ou induzindo a sua apoptose (EASTMAN AND RIGAS, 1999). O microambiente do CaP é desprovido de CDs (TROY et al., 1998) ou provido de CDs imaturas (BELL et al., 1999), o que mostra que a eliminação ou inativação dessas células no microambiente tumoral inibe significativamente a resposta imune do hospedeiro (CHO e BHARDWAJ, 2003). Fatores derivados de tumores, como IL-10 (BUELENS et al. 1997), IL-6 (MENETRIER-CAUX et al., 1998), óxido nítrico (NO), VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) (GABRILOVICH et al., 1996) e gangliosídeos (PÉGUET-NAVARRO et al., 2003) têm sido associados diretamente à supressão de CDs na região tumoral (HO et al., 2001).

Um estudo feito com câncer de mama demonstra a imunossupressão que o tumor exerce sobre as CDs, que foram encontradas com fenótipo imaturo infiltradas no tumor e com fenótipo maturo apenas na região peritumoral (BELL et al., 1999). A ausência de

CDs em tumores primários, como câncer de mama (LESPAGNARD, L. et al, 1999), câncer colorretal (AMBE, K; MORI, M; ENJOJI, 1989) e câncer de tireóide (YAMAKAWA, M. et al, 1995) também foram relatados. ALMAND e colaboradores (2000) também mostraram os efeitos inibitórios de VEGF sobre a maturação das CDs em câncer de mama. PIRTSKHALAISHVILI e colaboradores (2000) e AALAMIAN e colaboradores (2001) analisaram os efeitos dos fatores tumorais do Adenocarcinoma prostático e sugerem que, quando as CDs não são induzidas diretamente à apoptose, suas características fenotípicas são alteradas, impedindo, dessa maneira, a maturação em APC funcional. Assim, a resposta imune antitumoral é suprimida e a progressão tumoral favorecida.

2 JUSTIFICATIVA

Tendo em vista o aumento da expectativa de vida da população, ocasionada principalmente pela melhoria dos diagnósticos e tratamentos das doenças, este trabalho busca compreender melhor a neoplasia que mais acomete a população masculina acima dos 40 anos de idade no Brasil e no mundo: o câncer de próstata (JONIAU et al., 2005; ROEHRBORN, 2005; JEMAL et al., 2006). Acometendo cerca de 61 mil homens a cada ano e causando aproximadamente 11 mil óbitos anualmente, o CaP fica apenas atrás do câncer de pele não-melanoma no ranking de maior incidência e novos casos (INCA, 2015).

A alta incidência e mortalidade ocasionadas pelo CaP justifica a importância de estudos cada vez mais detalhados sobre a doença e também sobre as condições pré-neoplásica que acometem a glândula prostática, visto que um diagnóstico precoce e tratamentos menos invasivos aumentam cada vez mais a sobrevida do paciente. Além disso, um estudo aprofundado sobre a relação entre a neoplasia e as CDs aprimora os conhecimentos a respeito do comportamento do sistema imune do paciente quando em combate contra células malignas.

Acredita-se que a redução de CDs maduras no sítio tumoral permite o sucesso do desenvolvimento das condições neoplásicas enquanto o sistema imune do paciente é suprimido por fatores tumorais específicos (HO et al. 2001; PIRTSKHALAISHVILI, et al., 2000), como já foi demonstrado várias vezes em estudos com de câncer mama (BELL et al., 1999; LESPAGNARD, L. et al, 1999; ALMAND et al., 2000) e também em adenocarcinoma prostático PIRTSKHALAISHVILI et al., 2000; AALAMIAN et al., 2001).

Determinando o tipo de ocorrência destas células, ou seja, a presença de células maduras ou imaturas e/ou a alta ou baixa densidade das mesmas no local da lesão, como já foi descrito anteriormente em lesões neoplásicas próstata (TROY et al., 1998), de mama (COVENTRY et al., 2002) e de colo de útero (HAYATI e ZULKARNAEN, 2006), amplia-se o conhecimento sobre a atuação destas células no desenvolvimento do adenocarcinoma prostático, sua interação com mecanismos de defesa e também contribui para a aplicação de terapias experimentais, como a imunoterapia celular baseada em CDs (LÓPEZ e HART, 2002; PINZON-CHARRY; MAXWELL; LÓPEZ, 2005), já utilizada em outras lesões malignas, como câncer de bexiga e mama (RIDGWAY, 2003).

O trabalho proposto poderá contribuir para o avanço das pesquisas em diagnóstico precoce e tratamento de lesões prostáticas, neoplásicas ou não, ampliando os serviços prestados para a saúde e bem estar do homem e assim, diminuir os altos números de óbitos que ocorrem no Brasil anualmente devido ao câncer de próstata.

3 HIPÓTESE

Acredita-se que lesões displásicas e neoplásicas de próstata apresentam menor quantificação de células dendríticas maduras e imaturas quando comparados com lesões hiperplásicas.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo pretende avaliar quantitativamente a população de CDs em três grupos distintos de pacientes: pacientes portadores de diagnóstico de HPB (Grupo 1), NIP (Grupo 2), e Adenocarcinoma de próstata (Grupo 3).

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a-) Identificar e quantificar, por meio de reações imuno-histoquímicas, as CDs imaturas e maduras imunomarcadas respectivamente pelos anticorpos CD1a e CD83 em lesões hiperplásicas, displásicas e tumorais de próstata;

b-) Correlacionar os achados clínicos dos pacientes como idade, etnia, doenças de base, histórico familiar, estadiamento da doença, tabagismo e alcoolismo com os achados microscópicos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH-UFSC) em acordo com o Conselho Nacional de Saúde (Ministério da Saúde, Brasil) - CAAE 58460716.9.0000.0121.

Os pacientes envolvidos neste projeto responderam ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou TCLE (Apêndice A) autorizando, assim, a coleta das informações clínicas e histopatológicas presentes nos laudos anatomopatológicos bem como acesso ao material tecidual embocado em parafina, coletado com finalidade de diagnóstico ou tratamento.

5.2 DELINEAMENTO

Estudo descritivo observacional, tipo caso-controle.

5.3 COLETA DE DADOS

O grupo amostral do presente estudo foi constituído por 20 indivíduos pacientes do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU- UFSC), vinculado à Universidade Federal de Santa Catarina. A escolha dos casos foi feita, primeiramente, pelos livros de registros do Serviço de Anatomia Patológica (SAP) do HU-UFSC de 2010 a 2016; depois, análise e escolha de cada caso selecionado através dos laudos histológicos dos pacientes, excluindo-se casos que não fossem hiperplasia, displasia ou neoplasia prostática. Então, foi solicitada a pesquisa nos prontuários físicos dos pacientes selecionados, onde dados pessoais (telefone, endereço) e clínicos (doenças de base, histórico familiar, uso de álcool e tabaco) foram obtidos. Os dados pessoais foram importantes para o contato com o paciente e assinatura do TCLE.

5.4 DESENHO EXPERIMENTAL E COLETA DE MATERIAL

Este estudo, de caráter retrospectivo, foi constituído por 3 grupos e contou com a coleta de material (tecido emblocado em parafina oriundo de biópsias ou peças cirúrgicas) proveniente do SAP-HU da UFSC.

Os grupos de pesquisa foram formados por 10 amostras de biópsias ou peças cirúrgicas de próstata com diagnóstico de Hiperplasia Prostática Benigna (Grupo 1), 10 amostras com Neoplasia Intraepitelial Prostática (Grupo 2), e 10 amostras de Adenocarcinomas de próstata (Grupo 3).

Neste estudo, tipo caso-controle, o grupo considerado controle foi o grupo 1, pacientes diagnosticados com HPB, em virtude de não haver disponibilidade de tecido prostático saudável para coleta, uma vez que o material obtido é derivado de espécimes coletados durante procedimentos onde já há alterações diagnosticadas. Ademais, os grupos 2 e 3 foram integrados pelos mesmos indivíduos pelo baixo número de pacientes com registro de lesões somente com NIP no período de levantamento dos dados da pesquisa, mas sim, em associação com o Adenocarcinoma prostático.

Para a seleção dos indivíduos participantes da pesquisa, foram incluídas amostras teciduais de próstata de homens com idades entre 40 e 90 anos. O estudo excluiu pacientes portadores de doenças autoimunes ou neoplasias que não eram adenocarcinomas em próstata; além disso, os pacientes que não retornaram TCLE assinado também foram excluídos da pesquisa.

As informações clínicas incluindo idade, etnia, tempo de queixa, sinais, sintomas, localização dos tumores, tratamento efetuado e recorrência foram obtidas a partir das fichas de biópsias/peças cirúrgicas e dos prontuários médicos de cada paciente.

As análises das lâminas coradas em hematoxilina & eosina (H&E) foram realizadas por dois patologistas objetivando atestar e qualificar as lesões. As amostras que tiveram discordância entre os examinadores quanto à classificação histopatológica ou que impossibilitaram a execução de todas as etapas referentes à preparação histológica e à técnica de imuno-histoquímica foram excluídas do trabalho.

5.5 REAÇÕES IMUNO-HISTOQUÍMICAS

As reações imuno-histoquímicas para a marcação das CDs e identificação das CDs imaturas (anti-CD1a) e maduras (anti-CD83)

foram realizadas no Laboratório de Patologia Bucal (LPB) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFSC.

Para cada antígeno, foi obtido uma secção tecidual de 3 μ m de espessura dos blocos de parafina das amostras selecionadas e montadas em lâminas silanizadas. Um controle negativo, do mesmo tecido analisado, foi incluído em cada série de colorações imuno-histoquímicas, com a omissão do anticorpo primário. O controle positivo utilizado para a padronização dos anticorpos foi feito com tecido linfonodal de acordo com as recomendações dos fabricantes.

Para iniciar o processo de desparafinização, as lâminas permaneceram por 30 minutos em estufa com temperatura de 70°C. Depois disso, as amostras foram mantidas em Xilol *overnight*, antes do primeiro dia de reação imuno-histoquímica.

No primeiro dia de reação, monta-se uma bateria de xilol e álcoois para desparafinização e reidratação do tecido. Primeiramente, as lâminas são banhadas em Xilol por 20 minutos; depois, 3 banhos em álcool etílico absoluto, um banho em álcool etílico 95% e, então, um banho em álcool etílico 85%, todos com duração de 5 minutos. Por último, dois banhos, também de 5 minutos cada, em água destilada para reidratação. Para o bloqueio da peroxidase endógena foram feitas duas soluções, a primeira com 40ml de tampão PBS + 40ml de álcool metílico + 20ml peróxido de hidrogênio; a segunda solução foi feita com 90ml de álcool metílico + 10ml de peróxido de hidrogênio, volumes suficientes para uma cuba (100ml). Na primeira solução, as lâminas permaneceram por 20 minutos, enquanto que na segunda, 10 minutos. Durante a espera, as lâminas foram guardadas em caixas de plástico fechadas, a fim de bloquear a incidência de luz sobre as soluções. Depois, as amostras passaram por um banho em tampão PBS e outro em água destilada por 5 minutos em cada banho.

Na recuperação antigênica, uma solução (1:10) de tampão citrato (0,01M, pH 6,0) e água destilada foi feita e pré-aquecida em banho-maria. As lâminas, então, foram passadas para as cubas com solução (10ml tampão citrato + 90ml de água destilada em cada cuba) e posteriormente, colocadas em banho-maria por 40 minutos em uma temperatura de 96°C. Depois, as cubas foram retiradas do banho-maria e deixadas para esfriar. Após chegarem à temperatura ambiente, foram submetidas a dois banhos de tampão PBS de 5 minutos cada. Para o bloqueio das ligações não-específicas, as amostras foram incubadas por 40 minutos em uma solução de 5 gramas de leite em pó desnatado + 100ml de PBS. Depois, dois banhos de cinco minutos em tampão PBS. Os anticorpos primários utilizados foram CD1a (clone:010; DAKO) e

CD83 (clone:1H4b; Novocastra). Foi calculada a quantidade de cortes histológicos e mensurado 40µl para cada corte e então, os anticorpos foram diluídos (CD1a 1:100 e CD83 1:50) e aplicados sobre os cortes. Por fim, as lâminas foram mantidas em geladeira (4 a 8°C) *overnight*.

No segundo dia reação, as lâminas passaram por dois banhos de 5 minutos em tampão PBS antes da incubação com o anticorpo secundário EnVision® (Dako); 40µl do anticorpo secundário foi despejado sobre cada corte histológico e após 60 minutos, as lâminas passaram por dois banhos em tampão PBS de 5 minutos cada. Foi utilizado o kit comercial Dual Link System-HRP (DAB+), da Dako, para o preparo da solução cromógena (uma gota de DAB para 1 ml de tampão). Foi despendido 40µl da solução em cada corte histológico e deixado por 4 minutos. Após o tempo determinado, as lâminas foram guardadas em água destilada. Ao final de toda a aplicação da solução cromógena, a água destilada contaminada foi trocada por água destilada limpa e as lâminas permaneceram na cuba por 5 minutos.

A Contra-coloração das lâminas foi feita com Hematoxilina de Harris por 2 minutos e depois, lavadas em água corrente não direta. Depois, as lâminas foram imersas por 1 segundo em solução aquosa de amônia 1%, por três vezes para remoção do pigmento formólico e lavadas em água corrente não direta por 2 minutos. Para finalizar, os cortes passaram por um banho em álcool etílico 85%, um banho em álcool etílico 95% e três banhos em álcool etílico absoluto, cada banho com duração de 5 minutos. Depois, dois banhos de 20 minutos em Xilol. Por fim, as lâminas foram aplicadas com resina sintética Entellan e as lâminas preservadas em estufa (40°C).

5.6 AVALIAÇÃO DA IMUNORREATIVIDADE

A quantificação das células dendríticas com positividade para os anticorpos contra CD1a e CD83 foi realizada utilizando-se da objetiva de 40x do microscópio de luz Olympus modelo BX41 (Japão) com câmera digital colorida acoplada com 3.3 megapixel da *Q-imaging* e software para captura de imagens *Q-capture Pro 5.1* da *Q-imaging* (Japão), do Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB) do CCB-UFSC. O índice de positividade foi obtido através da leitura de 5 campos aleatórios com um mínimo de 1 mm² de área tecidual e a escolha da região foi determinada pela integridade estrutural do tecido e positividade mais evidente. As células positivas foram contadas para cada um dos anticorpos nas áreas neoplásicas, displásicas e hiperplásicas utilizando o software *ImageJ 1.46r* (*National Institutes of Health*,

Estados Unidos da América) por dois avaliadores. Nesta etapa, primeiramente houve uma calibração de contagem, em que as primeiras contagens de células foram analisadas por um avaliador para adequação da leitura. Posteriormente, com índice de concordância maior de 90% entre as contagens dos avaliadores, os resultados foram expressos em células positivas por área tumoral e por epitélio displásico e hiperplásico. Após a determinação do número médio de CDs/mm², os diferentes grupos foram comparados estatisticamente.

5.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a comparação da quantificação das células dendríticas entre grupos estudados foi aplicada a análise de variância (Anova) e teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD com o auxílio do software SPSS (versão 18.0). Os resultados foram expressos pela média \pm DP (desvio padrão) com nível de significância estatística de 5% ($P < 0.05$).

6 RESULTADOS

Os achados microscópicos mostraram que as CDs marcadas com o anticorpo CD1a apresentam prolongamentos dendríticos mais evidentes (Figuras 1, 2 e 3-B), enquanto que as células marcadas com CD83 apresentaram aspecto mais ovoide (Figuras 1, 2 e 3-C).

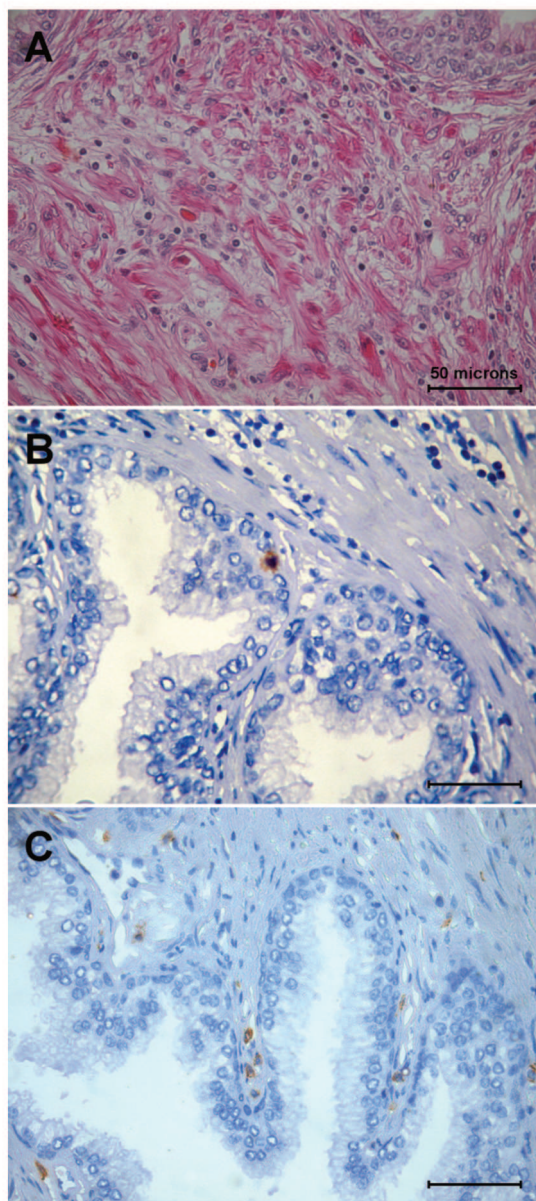


Figura 1. Tecido prostático com HPB. A: coloração H&E; B: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD1a+; C: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD83+ (magnificação 400x).

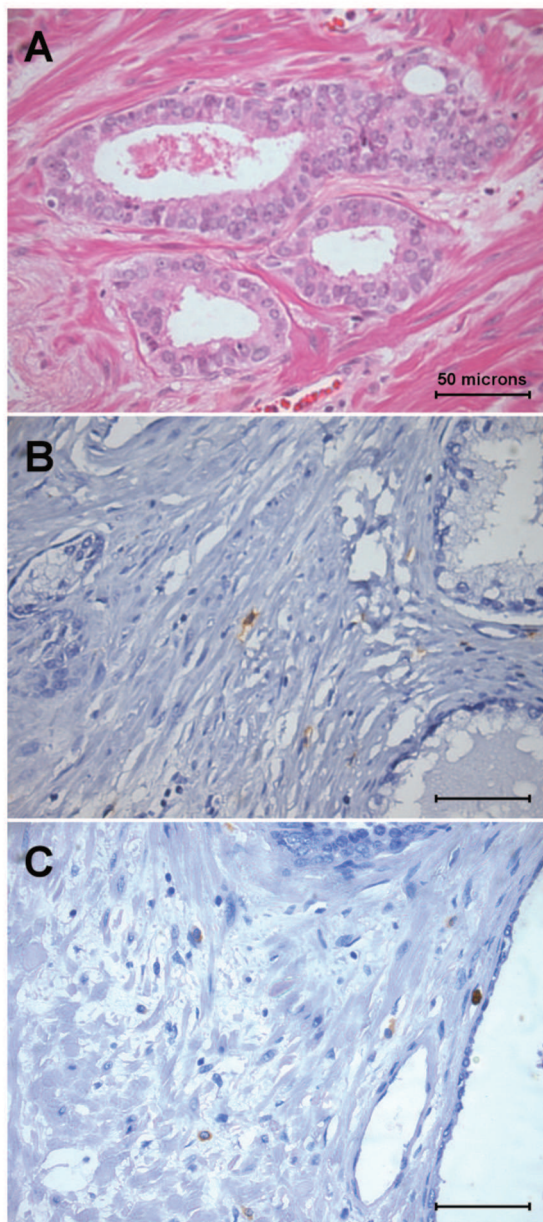


Figura 2. Tecido prostático com NIP. A: coloração H&E; B: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD1a+; C: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD83+ (magnificação 400x).

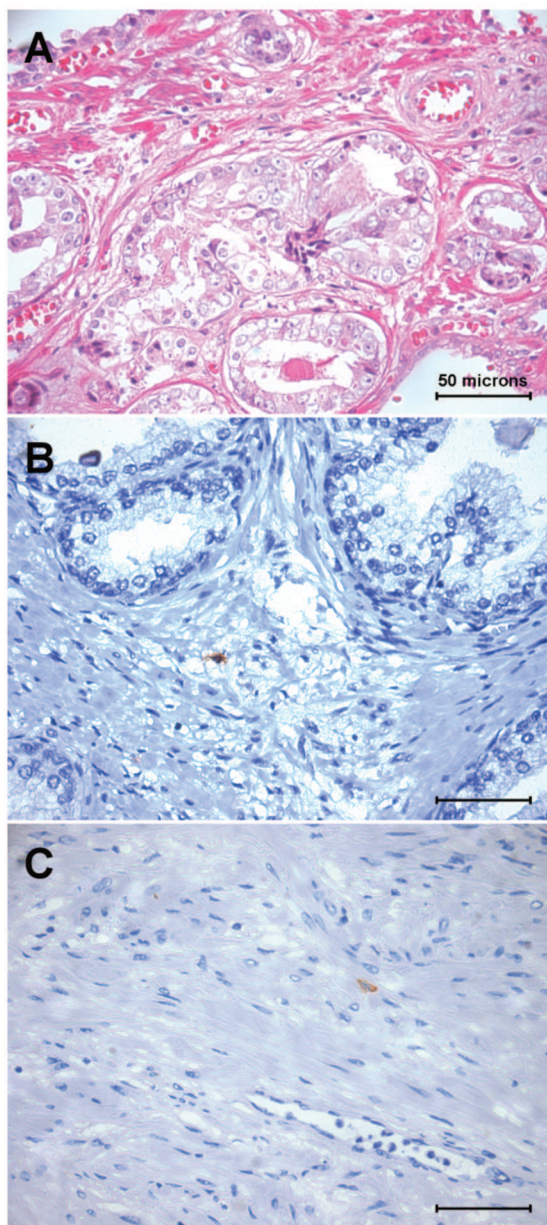


Figura 3. Tecido prostático com CaP. A: coloração H&E; B: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD1a+; C: Imuno-histoquímica com marcação para CD CD83+ (magnificação 400x).

Tabela 1. Análise descritiva dos achados clínicos e histológicos de pacientes participantes da pesquisa.

	Grupo 1 (N=10)		Grupo 2 e 3 (N=10)	
	Frequência Absoluta(n°)	Frequência Relativa(%)	Frequência Absoluta(n°)	Frequência Relativa(%)
Etnia				
Branco	9	90%	9	90%
Negro	1	10%	1	10%
Outros	0	0	0	0
Consumo de tabaco				
Fumantes ou ex-fumantes	8	80%	4	40%
Não-fumante	1	10%	4	40%
Dados não disponíveis	1	10%	2	20%
Consumo de álcool				
Sim	0	0%	7	70%
Não	2	20%	1	10%
Dados não disponíveis	8	80%	2	20%
Sintomatologia - LUTS				
Sim	8	80%	4	40%
Não	1	10%	4	40%
Dados não disponíveis	1	10%	2	20%
Histórico Familiar (CaP)				
Sim	0	0%	2	20%
Não	1	10%	4	40%
Dados não disponíveis	9	90%	4	40%
Estágio TNM				
I/ II	0	0%	10	100%
III/ IV	0	0%	0	0
Não se Aplica	10	100%		
Tratamento				
Cirurgia	10	100%	10	100%
Radioterapia	0	0	0	0
Invasão perineural				
Sim	0	0%	8	80%
Não	0	0%	2	20%
Não se Aplica	10	100%		

A média das idades no diagnóstico de HPB, NIP ou CaP foi de 61 anos ($P > 0,05$) não sendo observado diferenças significativas entre as idades dos indivíduos, mostrando uma homogeneidade etária. A Tabela 1 apresenta variáveis dos pacientes obtidas pelo prontuário ou através de entrevista nos três grupos experimentais.

O tabagismo mostrou-se presente em 80% dos casos do grupo 1, em que eram aceitos como “Sim” casos de tabagista atual ou ex-tabagista. No mesmo grupo, 10% relataram nunca terem fumado. Nos grupos 2 e 3, 40% dos pacientes relataram o uso do cigarro e outros 40% negaram. Em relação ao uso de álcool, no grupo 1, 2 indivíduos (20%) relataram não fazerem uso de bebida alcoólica, enquanto que nos grupos 2 e 3, a ingestão de bebida alcoólica esteve presente em 70% dos casos (socialmente ou com maior frequência) e 10% negaram o consumo de bebida alcoólica. A análise dos sintomas apresentados pelos pacientes mostra que 80% dos indivíduos do grupo 1 apresentaram sintomas (LUTS), enquanto que apenas 10% se mostraram assintomáticos; nos grupos 2 e 3, 40% dos pacientes relataram sintomas e outros 40% foram assintomáticos. Em relação à etnia dos participantes, 90% dos homens eram brancos e 10% eram negros em todos os grupos. No grupo 1 apenas um paciente relatou não haver histórico de câncer de próstata na família (10%), os demais não tinham registro no prontuário; já nos grupos 2 e 3, duas pessoas (20%) relataram um parente próximo diagnosticado com câncer de próstata e 40% negaram histórico familiar, nos outros 40% não foi encontrado registro nos prontuários (Tabela 1).

Em relação ao estágio clínico dos pacientes atribuídos apenas a casos com CaP, 90% apresentaram Escala de Gleason, ou $G = 7$, e os restantes 10%, $G = 6$. Quanto ao estadiamento patológico, todos os casos apresentaram classificação pT2c, que significa “tumor com mais de 2cm, porém não mais que 5 cm” e, por isso, todos foram classificados como estágio II (TNM). Não foram relatados linfonodos acometidos e metástases, o acometimento de margens cirúrgicas afetou 30% dos pacientes e apenas 1 caso apresentou tumor residual microscópico após o tratamento. Nenhum dos pacientes apresentou invasão linfática e vascular, mas a grande maioria (80%) teve invasão perineural presente. Em todos os casos de CaP os pacientes foram tratados com prostatectomia radical, havendo apenas um caso de reincidência.

Tabela 2. CDs positivas por mm² para CD1a (média \pm desvio padrão) e CD83 (média \pm desvio padrão) em Hiperplasia Prostática Benigna (HPB), Neoplasia Intraepitelial Prostática (NIP) e Adenocarcinoma de Próstata (CaP).

Grupo	CD1a	CD83
HPB	36,83 \pm 48,24	91,43 \pm 143,49
NIP	165,71 \pm 96,77	165,08 \pm 32,92
CaP	62,86 \pm 70,41	54,6 \pm 42,35

A Tabela 2 mostra comparações múltiplas das médias relativas à CD1a+ e CD83+ entre os três grupos de estudo. As diferenças entre os resultados positivos para CD1a e CD83 possuem variações entre si. Nas marcações de CD1a, os casos de HPB e CaP não são diferentes estatisticamente ($P=0,717$), mas quando HPB e CaP são comparados com NIP, as diferenças são consideráveis (HPB e NIP: $P=0,002$; CaP e NIP $P=0,012$). Nas marcações de CD83, as diferenças foram entre NIP e CaP ($P=0,025$), enquanto que as comparações de NIP e CaP com HPB não foram estatisticamente significativas ($P=0,626$ e $P=0,169$ respectivamente).

Na Figura 4, observa-se poucas células imaturas marcadas em hiperplasia prostática, embora tenha a presença dos *outliers* (paciente 2 e 7 do Grupo 1) que tiveram resultados superiores em comparação com os outros pacientes do mesmo grupo. Os pacientes com displasia mostraram o maior número de CDs imaturas no tecido prostático, enquanto que os pacientes com adenocarcinoma prostático mostraram uma população menor que a encontrada em NIP, mas maior que HPB.

Na Figura 5, o grupo 1 (HPB) mostra maior dispersão dos resultados positivos para CDs maduras em relação aos outros grupos; o grupo diagnosticado com NIP apresenta maior média de células marcadas com o anticorpo CD83, mas menor amplitude de distribuição de resultados em relação aos outros. Os pacientes pertencentes ao Grupo 3 (CaP) tiveram maior média em relação aos pacientes do grupo de HPB e menor em relação à NIP, e o menor número máximo de células marcadas com CD83.

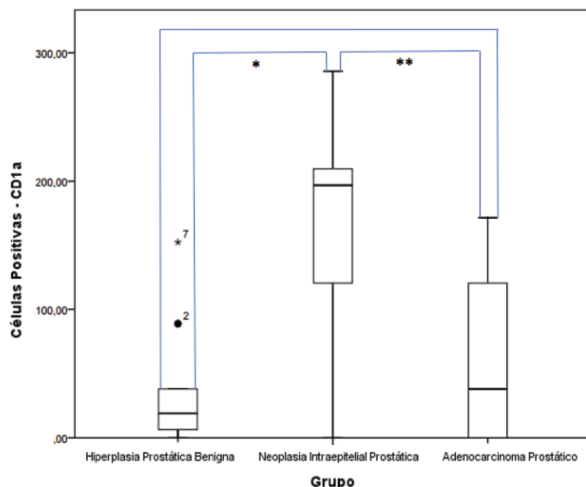


Figura 4. Gráfico mostrando a quantificação das células dendríticas CD1a+ por mm² tecidual nos grupos diagnosticados com HPB, NIP e CaP. * $P=0,002$; ** $P=0,012$.

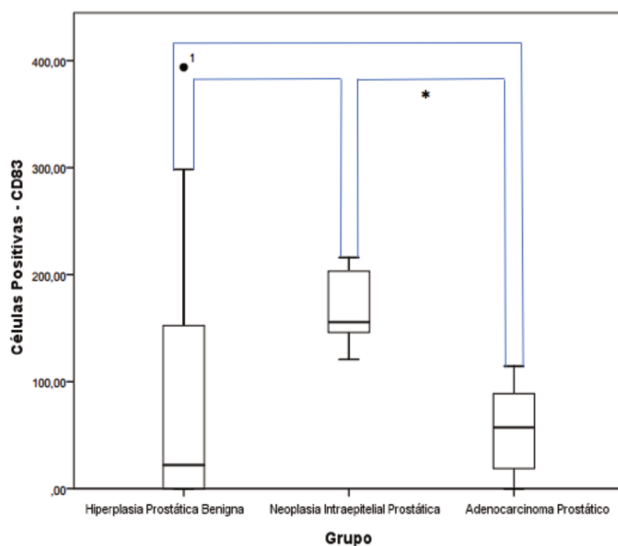


Figura 4. Gráfico mostrando a quantificação das células dendríticas CD83+ por mm² tecidual nos grupos diagnosticados com HPB, NIP e CaP. * $P=0,025$.

7 DISCUSSÃO

Sabendo que as CDs são encontradas geralmente em tecidos estratégicos, ou seja, em locais em que o organismo interage com o meio externo (sangue, linfonodos, baço, pele, sistema gastrointestinal e respiratório) (PACHIADAKIS et al., 2005), uma próstata saudável pode apresentar poucas ou nenhuma CD residente. Por outro lado, quando alguma lesão acomete a glândula, desde hiperplasia até a neoplasia prostática, as CDs são as principais ativadoras do sistema imunológico específico do hospedeiro (PINZON-CHARRY et al., 2005) e, por isso, estarão presentes onde ocorrerem alterações teciduais ou invasões de patógenos (IGYARTO e KAPLAN, 2010; ROMANI; CLAUSEN; STOITZNER, 2010).

Os resultados do presente estudo mostram que, além da presença das CDs nas lesões estudadas, a densidade populacional desta célula imunológica varia entre os diferentes tipos de lesões. O aumento significativo das CDs (maduras e imaturas) nos tecidos acometidos por NIP poderia ser explicado por uma intensa resposta imunológica do hospedeiro causada pela alteração celular. Embora o estudo de KARAKIEWICZ e colaboradores (2007) mostre que homens com inflamação crônica tenham 89% menos probabilidade de desenvolverem NIP de alto grau, outros estudos mostraram que processos inflamatórios podem levar o tecido a desenvolver áreas de proliferação epitelial, chamadas de atrofia proliferativa inflamatória (API) (DE MARZO et al., 1999; ELKAHWAJI; HAUKE; BRAWNER, 2009). O termo AIP foi proposto por DE MARZO et al. (1999) para designar focos de epitélio glandular proliferativo com o aspecto morfológico de atrofia simples ou hiperplasia pós-atrótica (PAH), ocorrendo em associação à inflamação. Os mesmos autores explicam que apesar da proliferação, a lesão não cresce em volume devido a uma possível perda celular que compensa a proliferação. Além disso, esses autores acreditam que o epitélio em regeneração suprime a morte celular programada, ao menos temporariamente, para substituir as células perdidas, o que embasa o conceito de que a AIP é uma lesão regenerativa. A API ocorre principalmente na zona periférica da glândula prostática (DE MARZO et al., 2007), região associada à NIP e CaP. Além disso, as células de API apresentam modificações moleculares, como o aumento da expressão do gene apoptótico Bcl-2 (DE MARZO, 1999), e fenotípicas semelhantes àquelas encontradas em NIP e CaP (ELKAHWAJI; HAUKE; BRAWNER, 2009), o que suporta a ideia de que a inflamação

crônica poderia contribuir para o desenvolvimento de NIP e CaP (DE MARZO et al., 1999).

Por outro lado, temos uma diminuição significativa das CDs nas regiões neoplásicas, o que pode ser explicado pelos fatores tumorais liberados no microambiente tumoral ou expressos na superfície do tumor (PIRTSKHALAISHVILI, et al., 2000). Estes fatores tumorais bloqueiam o amadurecimento das CDs impedindo que a célula expresse moléculas coestimulatórias que induzem a ativação e proliferação de Linfócitos T (AALAMIAN et al., 2001; PINZON-CHARRY; MAXWELL; LÓPEZ, 2005) ou ainda, podem provocar sua apoptose (EASTMAN e RIGAS, 1999). Esse poderia ser um motivo que explicaria o aumento numérico (não estatisticamente significativo) de CDs imaturas em relação às maduras nas lesões neoplásica dos nossos resultados. A imunossupressão de CDs também gera uma diminuição de IL-12, produzida pelas CDs; essa redução de IL-12 gera um desbalanço entre os Linfócitos *Th1* e *Th2* (detectado também em outros tipos de câncer) (SHURIN et al., 1999), o que colabora com a ineficiência da resposta imune antitumoral (ESCHE et al., 1999) e permite a progressão do tecido neoplásico (AALAMIAN et al., 2001).

Foi observado que as CDs CD83+ tiveram uma maior dispersão de valores no grupo HPB, quando comparadas às CDs maduras dos outros grupos; isso poderia ser explicado pelas citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias produzidas pelas células hiperplásicas que atraem e ativam as células do sistema imune do hospedeiro (NORSTRÖM et al., 2016). Sendo a célula dendrítica uma das principais APCs do sistema imune, é sensato atribuir o excesso destas células nos tecidos hiperplásicos aos processos inflamatórios da próstata, já que a inflamação, combinada com mudanças hormonais graduais, é uma das principais causas etiológicas de HPB (SCHALKEN, 2015). Em relação aos *outliers* nos casos de HBP presentes nos gráficos, não há evidências clínicas que expliquem a alta densidade populacional de CDs no tecido prostático destes pacientes, exceto pelo fato que 2/3 deles são ou eram tabagistas.

Outro ponto importante a ser discutido é a faixa etária dos pacientes; a idade média dos participantes da pesquisa é de 61 anos, o que corrobora com os estudos epidemiológicos das lesões de próstata que sugerem 60% de chances de um homem desenvolver HPB (ZIADA; ROSENBLUM; CRAWFORD, 1999) e 45% de chance de desenvolver CaP (JEMAL et al., 2006) em sua sexta década de vida. Esses dados suportam a importância de exames clínicos periódicos a partir dos 45

anos, pela maior probabilidade de se conseguir tratar a doença em seu estágio inicial.

A etiologia das lesões estudadas neste trabalho não é bem compreendida, mas acredita-se que haja uma associação de fatores de risco que potencializam o aparecimento destas doenças na população. O histórico familiar do paciente já foi comprovado ser um fator de risco para HPB (ROEHRBORN, 2005) e para CaP, que aumenta de acordo com o número de familiares próximos afetados (EELES et al., 1997; BRATT, 2002). Existem três formas de incidência do CaP: esporádica (aparecimentos pontuais dentro da população), familiar (pode ou não acometer membros da mesma família em parentes de primeiro grau) e hereditária (que segue um padrão de distribuição de herança mendeliana associada a um gene de susceptibilidade (CARTER et al, 1993; BRATT, 2002). Porém, neste estudo, somente dois indivíduos relataram um parente próximo com CaP, não se estabelecendo uma correlação direta com o desenvolvimento neoplásico.

As variáveis ambientais associadas à epidemiologia de HPB e CaP são dieta (HORI; BUTLER; MCLOUGHLIN, 2011) e obesidade (BURTON et al., 2010), além de tabagismo e uso frequente de bebida alcoólica (ROEHRBORN, 2005). No entanto, devido à falta de informações necessárias, apenas uso de tabaco e bebida alcoólica foi considerado nesta pesquisa. Os resultados mostraram que uma parcela dos pacientes faz ou fazia uso do tabaco durante muitos anos no decorrer da vida, porém, não foi possível estabelecer uma relação com o desenvolvimento neoplásico. Sobre o consumo de álcool, as informações obtidas pelos prontuários ou pelas entrevistas não suportam uma relação direta com o risco de desenvolvimento neoplásico.

Os métodos atuais de tratamento para câncer de próstata, como radioterapia, quimioterapia e prostatectomia radical são muito invasivos e tem diminuído a qualidade de vida dos pacientes. A remoção completa do órgão, tratamento preconizado no HU-UFSC para os casos estudados, deixou sequelas nos pacientes, como disfunção erétil e problemas no trato urinário (LUTS) (relato dos pacientes)¹. A redução significativa de CDs maduras (CD83+) no adenocarcinoma prostático sugere uma imunossupressão causada pelos fatores derivados de tumor, o que serve como base para o desenvolvimento de novos tratamentos para o câncer, como a imunoterapia baseada em CDs, que permite um tratamento menos invasivo e mais efetivo, diferente dos tratamentos

¹ Relatos dos pacientes obtidos através de entrevista, pessoalmente ou por telefone.

convencionais (radioterapia e quimioterapia) que não são seletivos e atingem também as células normais do organismo, podendo debilitar suas defesas naturais e contribuir para a progressão do tumor.

No transcorrer do projeto, algumas limitações técnicas foram encontradas, especialmente, no preenchimento insuficiente das informações clínicas nos prontuários médicos, dificuldade na obtenção de algumas amostras teciduais emblocadas em parafina e o contato com os pacientes para a obtenção do TCLE assinado.

Assim, este trabalho teve os objetivos alcançados e os resultados confirmam, apenas em parte, a hipótese inicialmente pensada: as lesões neoplásicas da próstata apresentem menor quantificação de CDs (principalmente de células maduras) quando comparadas com lesões hiperplásicas. Já as lesões displásicas da próstata apresentaram uma grande quantidade de CDs, tanto imaturas quanto maduras, quando comparadas com hiperplasia e adenocarcinoma, o que poderia ser explicado pelo fato de que a resposta inflamatória, geralmente presente no ambiente tumoral, é um fator colaborador na progressão de muitos tipos de câncer (SFANOS e DE MARZO, 2012).

Diante dos resultados, percebe-se a necessidade de continuação dos estudos sobre as lesões de próstata para que se estabeleça melhor e mais amplamente possíveis fatores de risco associados, bem como o papel das células dendríticas no desenvolvimento de neoplasias. Percebeu-se, também, que o aumento da amostra obtida, com mais pacientes avaliados, poderia gerar um melhor poder estatístico para a discussão dos dados.

8 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que:

- O grupo com NIP mostrou diferença estatística significativa no aumento da população de células dendríticas imaturas (CD1a) quando comparado com os grupos HPB e CaP; já as CDs maduras CD83, do grupo NIP, tiveram um aumento percebido estatisticamente somente quando comparadas com as do grupo CaP,

- Não houve correlações estabelecidas entre os aspectos clínicos (tabagismos, consumo de álcool, etnia, sintomatologia, histórico familiar, estadiamento, tratamento e invasão perineural) e as avaliações imuno-histoquímicas.

REFERÊNCIAS

- AALAMIAN, M. et al. Human prostate cancer regulates generation and maturation of monocyte-derived dendritic cells. *Prostate*, v. 46, n.1, p. 68-75, 2001.
- ABDOU, L. A. et al. Immunohistochemical and ultrastructural study of Langerhans's cells in squamous cell carcinoma of the cervix. *J Obstet Gynaecol Res*, v. 25, n.1, p. 15-21, 1999.
- AERTS-TOEGAERT, C. et al. CD83 expression on dendritic cells and T cells: correlation with effective immune responses. *Eur J Immunol*, v. 37, n. 3, p. 686-95, 2007.
- ALMAND, B. et al. Clinical significance of defective dendritic cell differentiation in cancer. *Clin Cancer Res*, v. 6, p. 1755-1766, 2000.
- AMBE, K; MORI, M; ENJOJI, M. S-100 protein-positive dendritic cells in colorectal adenocarcinomas. Distribution and relation to the clinical prognosis. *Cancer*, v. 63, n. 3, p. 496-503, 1989.
- AMIN, M. B.; RO, J. Y.; AYALA, A. G. Putative precursor lesions of prostatic adenocarcinoma: fact or fiction? *Mod Pathol*, v. 6, n. 4, p. 476-83, 1993.
- BANCHEREAU, J. et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*, v. 18, p. 767-811, 2000.
- BANCHEREAU, J.; STEIMAN, R. M. 'Dendritic cells and the control of immunity', *Nature*, v. 392, n. 6673, p. 245-52, 1998.
- BELL, D. et al. In breast carcinoma tissue, immature dendritic cells reside within the tumor, whereas mature dendritic cells are located in peritumoral areas. *J Exp Med*, v. 190, n. 10, p. 1417-26, 1999.
- BEN-SHLOMO, Y. et al. The risk of prostate cancer amongst black men in the United Kingdom: the PROCESS cohort study. *Eur Urol*, v. 53, n. 1, p. 99-105, 2008.

BOSTWICK, D. G. Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). *Urology*, v. 34, s. 6, p. 16-22, 1989.

BOSTWICK, D. G. et al. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Rev Urol*, v. 6, n. 4, p. 171-9, 2004.

BOSTWICK, D. G.; PACELLI, A.; LOPEZ-BELTRAN, A. Molecular biology of prostatic intraepithelial neoplasia. *Prostate*, v. 29, n. 2, p. 117-34, 1996.

BRATT, O. Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *J Urol*, v. 168, n. 3, p. 906-13, 2002.

BUELENS, C. et al. Interleukin-10 prevents the generation of dendritic cells from human peripheral blood mononuclear cells cultured with interleukin-4 and granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor. *Eur J Immunol*, v. 27, n. 3, p. 756-62, 1997.

BURTON, A. J. et al. Metabolic imbalance and prostate cancer progression. *Int J Mol Epidemiol Genet*, v. 1, n. 4, p. 248-71, 2010.

CANCER RESEARCH SOCIETY, Types of Prostate Cancer. Disponível em <<https://www.crs-src.ca/page.aspx?pid=1801>>. Acesso em: 04 de Agosto de 2017.

CAO, W.; LEE, S. H.; LU, J. Lu. CD83 is preformed inside monocytes, macrophages and dendritic cells, but it is only stably expressed on activated dendritic cells. *Biochem J*, v. 385, n. 1, p. 85-93, 2005.

CARTER, B. S. et al. Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features. *J Urol*, v. 150, n. 3, p. 797-802, 1993.

CHO, J.; BHARDWAJ, N. Against the self: dendritic cells versus cancer. *APMIS*, v. 111, n. 7-8, p. 805-17, 2003.

COVENTRY, B.; HEINZEL, S. CD1a in human cancers: a new role for an old molecule. *Trends Immunol*, v. 25, n. 5, 242-8, 2004.

DE LA TORRE, M. et al. Prostatic intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma in total prostatectomy specimens: distribution, volumes and DNA ploidy. *Br J Urol*, v. 72, n. 2, p. 207-13, 1993.

DE MARZO, A. M. et al. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol*, v. 155, n. 6, p. 1985-92, 1999.

DE MARZO, A. M. et al. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer*, v. 7, n. 4, p. 256-69, 2007.

EASTMAN, A.; RIGAS, J. R. Modulation of apoptosis signaling pathways and cell cycle regulation. *Semin Oncol*, v. 26, n. 5, s. 16, p. 7-16, 1999.

EELES, R. A. et al. Familial prostate cancer: the evidence and the Cancer Research Campaign/British Prostate Group (CRC/BPG) UK Familial Prostate Cancer Study. *Br J Urol*, v. 79 sup. 1, p. 8-14, 1997.

ELKAHWAKI, J. E.; HAUKE, R. J.; BRAWNER, C. M. Chronic bacterial inflammation induces prostatic intraepithelial neoplasia in mouse prostate. *Br J Cancer*, v. 101, n. 16, p. 1740-8, 2009.

ESCHE, C., A. et al. CD154 inhibits tumor-induced apoptosis in dendritic cells and tumor growth. *Eur J Immunol*, v. 29, n. 7, p. 2148-55, 1999.

GABRILOVICH, D. I. et al. Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nat Med*, v. 2, n. 10, p. 1096-103, 1996.

GOEMAN, L. et al. Is low-grade prostatic intraepithelial neoplasia a risk factor for cancer? *Prostate Cancer Prostatic Dis*, v. 6, n. 4, p. 305-10, 2003.

GRÖNBERG, H. Prostate cancer epidemiology. *Lancet*, v. 361, n. 9360, p. 859-64, 2003.

GUNEYLI, S. Magnetic resonance imaging of benign prostatic hyperplasia. *Diagn Interv Radiol*, v. 22, n. 3, p. 215-9, 2016.

HAUTANEN, A. Synthesis and regulation of sex hormone-binding globulin in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*, v. 24, s. 2, p. S64-70, 2000.

HAYATI, A. R.; ZULKARNAEN, M. An immunohistochemical study of CD1a and CD83-positive infiltrating dendritic cell density in cervical neoplasia. *Int J Gynecol Pathol*, v. 26, n. 1, p. 83-8, 2007.

HO, C. S. Surgical and physical stress increases circulating blood dendritic cell counts independently of monocyte counts. *Blood*, v. 98, n. 1, p. 140-5, 2001.

HORI, S.; BUTLER, E.; McLOUGHLIN, J. Prostate cancer and diet: food for thought? *BJU Int*, v. 107, n. 9, p. 1348-59, 2011.

IGYARTO, B. Z.; KAPLAN, D. H. The evolving function of Langerhans cells in adaptive skin immunity. *Immunol Cell Biol*, v. 88, n. 4, p. 361-5, 2010.

JARVIS, T. R.; CHUGHTAI, B.; KAPLAN, S. A. Testosterone and benign prostatic hyperplasia. *Asian J Androl*, v. 17, n. 2, p. 212-6, 2015.

JEMAL, A. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin*, v. 56, n. 2, p. 106-30, 2006.

JONIAU, S. et al. Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): importance and clinical management. *Eur Urol*, v. 48, n. 3, p. 379-85, 2005.

KARAKIEWICZ, P. I. et al. Chronic inflammation is negatively associated with prostate cancer and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia on needle biopsy. *Int J Clin Pract*, v. 61, n. 3, p. 425-30, 2007.

KIM, H. L.; YANG, X. J. Prevalence of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and its relationship to serum prostate specific antigen. *Int Braz J Urol*, v. 28, n. 5, p. 413-6, 2002.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C.. *Robbins Patologia Básica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2013.

LEPOR, H. Pathophysiology, epidemiology, and natural history of benign prostatic hyperplasia. *Rev Urol*, v. 6, s. 9, p. S3-S10, 2004.

LÓPEZ, J. A.; HART, D. N. Current issues in dendritic cell cancer immunotherapy. *Curr Opin Mol Ther*, v. 4, n. 1, p. 54-63, 2002.

LESPAGNARD, L. et al. Tumor-infiltrating dendritic cells in adenocarcinomas of the breast: a study of 143 neoplasms with a correlation to usual prognostic factors and to clinical outcome. *International Journal of Cancer*, v. 84, n. 3, p. 309-314, 1999.

LUFT, T. et al. Functionally distinct dendritic cell (DC) populations induced by physiologic stimuli: prostaglandin E(2) regulates the migratory capacity of specific DC subsets. *Blood*, v. 100, n. 4, p. 1362-72, 2002.

McNEAL, J. E. Normal and pathologic anatomy of prostate. *Urology*, v. 17, s. 3, p. 11-6, 1981.

_____. Cancer volume and site of origin of adenocarcinoma in the prostate: relationship to local and distant spread. *Hum Pathol*, v. 23, n. 3, p. 258-66, 1992.

McNEAL, J. E.; BOSTWICK, D. G. Intraductal dysplasia: a premalignant lesion of the prostate. *Hum Pathol*, v. 17, n. 1, p. 64-71, 1986.

MENETRIER-CAUX, C. et al. Inhibition of the differentiation of dendritic cells from CD34(+) progenitors by tumor cells: role of interleukin-6 and macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, v. 92, n. 12, p. 4778-91, 1998.

MILLER, G., S. Adenovirus infection enhances dendritic cell immunostimulatory properties and induces natural killer and T-cell-mediated tumor protection. *Cancer Res*, v. 62, n. 18, p. 5260-6, 2002.

MONTI, S. et al. Insulin-like growth factor-I and -II in human benign prostatic hyperplasia: relationship with binding proteins 2 and 3 and androgens. *Steroids*, v. 63, n. 5-6, p. 362-6, 1998.

MUMTAZ, A. Beta-2 microglobulin levels in hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, v. 21, n. 4, p. 701-6, 2010.

NELSON, W. G. The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *J Urol*, v. 172, n. 5 Pt 2, p. S6-11; 2004.

NORSTRÖM, M. M. et al. Progression of benign prostatic hyperplasia is associated with pro-inflammatory mediators and chronic activation of prostate-infiltrating lymphocytes. *Oncotarget*, v. 7, n. 17, p. 23581-93, 2016.

OWEN, D. H.; KATZ, D. F. A review of the physical and chemical properties of human semen and the formulation of a semen simulant. *J Androl*, v. 26, n. 4, p. 459-69, 2005.

PACHIADAKIS, I. Is hepatitis C virus infection of dendritic cells a mechanism facilitating viral persistence? *Lancet Infect Dis*, v. 5, n. 5, p. 296-304, 2005.

PARSONS, J. K. et al. Metabolic factors associated with benign prostatic hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 91, n. 7, p. 2562-8, 2006.

PATEL, A. R.; KLEIN, E. A. Risk factors for prostate cancer. *Nat Clin Pract Urol*, v. 6, n. 2, p. 87-95, 2009.

PATEL, N. D.; PARSONS, J. K. Epidemiology and etiology of benign prostatic hyperplasia and bladder outlet obstruction. *Indian J Urol*, v. 30, n. 2, p. 170-6, 2014.

PÉGUET-NAVARRO, J. et al. Gangliosides from human melanoma tumors impair dendritic cell differentiation from monocytes and induce their apoptosis. *J Immunol*, v. 170, n. 7, p. 3488-94, 2003.

PETROW, V. The dihydrotestosterone (DHT) hypothesis of prostate cancer and its therapeutic implications. *Prostate*, v. 9, n. 4, p. 343-61, 1986.

PINZON-CHARRY, A.; MAXWELL, T.; LÓPEZ, J. A. Dendritic cell dysfunction in cancer: a mechanism for immunosuppression. *Immunol Cell Biol*, v. 83, n. 5, p. 451-61, 2005.

PIRTSKHALAISHVILI, G. et al. Cytokine-mediated protection of human dendritic cells from prostate cancer-induced apoptosis is regulated by the Bcl-2 family of proteins. *Br J Cancer*, v. 83, n. 4, p. 506-13, 2000.

PIRTSKHALAISHVILI, G. et al. Transduction of dendritic cells with Bcl-xL increases their resistance to prostate cancer-induced apoptosis and antitumor effect in mice. *J Immunol*, v. 165, n. 4, p. 1956-64, 2000.

QUINN, M.; BABB, P. Patterns and trends in prostate cancer incidence, survival, prevalence and mortality. Part II: individual countries. *BJU Int*, v. 90, n. 2, p. 174-84, 2002.

RIDGWAY, D. The first 1000 dendritic cell vaccinees. *Cancer Invest*, v. 21, n. 6, p. 873-86, 2003.

ROEHRBORN, C. G. Benign prostatic hyperplasia: an overview. *Rev Urol*, v. 7, s. 9, S3-S14, 2005.

ROMANI, N.; CLAUSEN, B. E.; STOITZNER, P. Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin. *Immunol Rev*, v. 234, n. 1, p. 120-41, 2010.

SAKR, W. A. et al. Epidemiology of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Scand J Urol Nephrol*, S. 205, p. 11-8, 2000.

SCHALKEN, J. A. Inflammation in the Pathophysiology of Benign Prostatic Hypertrophy. *European Urology Supplements*, v.14, p. e1455–e1458, 2015.

SFANOS, K. S.; DE MARZO, A. M. Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology*, v. 60, n. 1, p. 199-215, 2012.

SHAPPELL, S. B. et al. Prostate pathology of genetically engineered mice: definitions and classification. The consensus report from the Bar Harbor meeting of the Mouse Models of Human Cancer Consortium Prostate Pathology Committee. *Cancer Res*, v. 64, n. 6, p. 2270-305, 2004.

SHIBATA, Y. et al. Changes in the endocrine environment of the human prostate transition zone with aging: simultaneous quantitative analysis of prostatic sex steroids and comparison with human prostatic histological composition. *Prostate*, v. 42, n. 1, p. 45-55, 2000.

SHURIN, M. R. Dendritic cells presenting tumor antigen. *Cancer Immunol Immunother*, v. 43, p. 158-64, 1996.

SHURIN, M. R. Th1/Th2 balance in cancer, transplantation and pregnancy. *Springer Semin Immunopathol*, v. 21, n. 3, p. 339-59, 1999.

STEINMAN, L. Prospects for immunotherapy directed to the T cell receptor in human autoimmune disease. *Ann N Y Acad Sci*, v. 636, p. 147-53, 1991.

TROY, A. Phenotypic characterisation of the dendritic cell infiltrate in prostate cancer. *J Urol*, v. 160, n. 1, p. 214-9, 1998.

WATANABE, H. Measurements of size and weight of prostate by means of transrectal ultrasonotomography. *Tohoku J Exp Med*, v. 114, n. 3, p. 277-85, 1974.

WHO. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm and Cervical Mucus Interaction. Cambridge University Press, Cambridge, 1992.

WOENCKHAUS, J. e FECIN, I. Proliferative Inflammatory Atrophy: a background lesions of prostate cancer? *Journal Compilation Andrologia*, v. 40, p. 134-137, 2008.

YAMAKAWA, M. et al. Immunohistochemical analysis of dendritic/Langerhans cells in thyroid carcinomas. *Anal Cell Pathol*, v. 8, n. 4, p. 331-343, 1995.

ZIADA, A.; ROSENBLUM, M.; CRAWFORD, E. D. Benign prostatic hyperplasia: an overview. *Urology*, v. 53, n. 3, s. 3a, p. 1-6, 1999.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convite: Convido o (a) senhor (a) a participar da pesquisa intitulada “Avaliação da população de células dendríticas em lesões hiperplásicas, displásicas e neoplásicas de próstata”. As informações contidas neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), bem como quem fará a apresentação e obtenção da autorização dos pacientes, objeto desse estudo, serão os pesquisadores Débora Susane Bieger, Prof. Dr. Rodrigo Otávio Alves de Lima e Prof. Dr. Rogério de Oliveira Gondak.

Justificativa: A diminuição do número e/ou função das células dendríticas (células do sistema imunológico) em tecidos prostáticos pode estar relacionada com o aparecimento de doenças neoplásicas (câncer). As investigações geradas pelo corrente projeto permitirão uma melhor compreensão do impacto neoplásico sobre as células dendríticas.

Objetivos da pesquisa: Avaliar os aspectos clínicos e microscópicos de lesões benignas e malignas em próstata além de identificar e quantificar as células dendríticas associadas.

Metodologia: Este estudo será realizado a partir da coleta dos dados clínicos (idade, etnia, outras doenças associadas, uso de medicamentos, tabagismo e nível socioeconômico) contidos nos prontuários médicos dos pacientes diagnosticados com lesões precursoras do câncer de próstata (30 pacientes) e tumores malignos de próstata (10 pacientes) atendidos no Hospital Universitário (HU-UFSC) e diagnosticados pelo Serviço de Anatomia Patológica (SAP/HU-UFSC). Também serão avaliados os laudos anatomopatológicos e as lâminas histológicas obtidas após realização biópsias ou cirurgias.

Métodos alternativos: Não há outras formas existentes ou alternativas para a obtenção dos dados desejados na referida pesquisa além dos já citados nesta metodologia.

Desconforto e riscos: O desconforto ou risco possível é o compartilhamento de informações pessoais. Ressalto que sua identidade, bem como todos os dados ou informações fornecidas serão consideradas confidenciais e mantidas em sigilo.

Benefícios: Não há benefícios diretos para os sujeitos participantes desta pesquisa. Os benefícios esperados estão relacionados ao melhor entendimento do papel das células dendríticas no desenvolvimento do câncer de próstata

Acompanhamento e assistência: Qualquer dúvida ou maiores esclarecimentos a respeito da pesquisa ou quanto ao destino do material coletado poderá ser feito a qualquer momento pelo pesquisador responsável ao paciente ou familiar responsável.

Telefone, endereço e e-mail do pesquisador responsável: (48) 3721-3482; Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) - Centro de Ciências da Saúde (CCS) - Campus Universitário – Trindade – Florianópolis – SC. CEP 88040-900. Email: rogerio.gondak@ufsc.br.

Contato do comitê de ética envolvido: CEP-UFSC, Prédio Reitoria II
R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401, Trindade, Florianópolis/SC, CEP 88.040-400 fone: (48) 3721-6094, email: cep.propesq@contato.ufsc.br.

Garantias: Este TCLE está em acordo com a Resolução nº. 466, de 12 de dezembro de 2012, e você terá o esclarecimento necessário de qualquer parte do estudo antes, durante e após a realização da pesquisa. Baseado nas informações fornecidas tem o direito de recusar a participação na pesquisa, ou retirar o consentimento, a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer penalidade ou represália de qualquer natureza. A sua identidade, bem como todos os dados ou informações fornecidas serão consideradas confidenciais e mantidas em sigilo. A participação na pesquisa não gera despesas ao voluntário ou a família e haverá garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Uma cópia do presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelo pesquisador responsável será entregue ao participante ou ao familiar responsável pelo participante da pesquisa.

Consentimento

Eu, _____,
Identidade Nº _____, Telefone: _____,
certifico que, após a leitura deste documento e de outras explicações dadas pelo pesquisador responsável, sobre os itens acima, estou de

acordo com a minha participação ou do meu familiar na realização dessa pesquisa.

_____, ____ de _____ de 2017.

Assinatura do paciente ou responsável

Assinatura do(s) pesquisador (es)

APÊNDICE B – Parecer Consubstanciado do CEP/SH-UFSC

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA POPULAÇÃO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS EM LESÕES HIPERPLÁSICAS, DISPLÁSICAS E NEOPLÁSICAS DE PRÓSTATA

Pesquisador: Rodrigo Otávio Alves de Lima

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 58460716.9.0000.0121

Instituição Proponente: Departamento de Patologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.721.202

Apresentação do Projeto:

O presente estudo intitulado "AVALIAÇÃO DA POPULAÇÃO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS EM LESÕES HIPERPLÁSICAS, DISPLÁSICAS E NEOPLÁSICAS DE PRÓSTATA", pretende avaliar quantitativamente a população de células dendríticas (CDs) em quatro grupos distintos de pacientes: pacientes portadores de diagnóstico de hiperplasia benigna prostática (Grupo 1), neoplasia intraepitelial prostática de baixo grau (Grupo 2), neoplasia intraepitelial prostática de alto grau (Grupo 3) e adenocarcinomas de próstata (Grupo 4). Cada grupo será formado por 10 amostras de biópsias ou peças cirúrgicas de próstata com diferentes diagnósticos, segundo descrito acima, provenientes do Serviço de Anatomia Patológica (SAP) do Hospital Universitário da UFSC. As análises das lâminas coradas em hematoxilina & eosina (H&E) serão realizadas por pelo menos dois patologistas objetivando classificar as lesões displásicas em alto ou baixo grau e determinar o grau de diferenciação dos tumores de acordo com os critérios da OMS. As amostras que tiverem discordância entre os examinadores quanto à classificação histopatológica ou que impossibilitem a execução de todas as etapas referentes à preparação histológica e à técnica de imunohistoquímica serão excluídas do trabalho.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Barro: Trindade **CEP:** 88.040-400
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 1.721.202

O estudo objetiva:

- a-) Identificar e quantificar, por meio de reações imuno-histoquímicas, as CDs imaturas e maduras imunomarcadas respectivamente pelos anticorpos CD1a e CD83 em lesões hiperplásicas, displásicas e tumorais de próstata;
- b-) Comparar o número médio de CDs em áreas intra e peritumorais nos grupos afetados por adenocarcinomas;
- c-) Descrever as alterações morfológicas apresentadas pelas CDs sob influência das displasias teciduais ou neoplasias;
- d-) Correlacionar os achados clínicos dos pacientes como idade, etnia, uso crônico de medicamentos, doenças de base, tabagismo e nível socioeconômico com os achados microscópicos

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não há evidência de riscos uma vez que se trata de pesquisa prospectiva com análise de material já arquivado.

Benefícios:

O trabalho proposto, alcançando os seus objetivos, poderá contribuir de maneira significativa para o avanço das pesquisas em diagnóstico precoce e tratamento de lesões prostáticas, neoplásicas ou não, como também no entendimento dos mecanismos que permeiam a evolução e desenvolvimento desta neoplasia, podendo também ter aplicação em outros tipos neoplásicos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta pertinência, fundamentação bibliográfica, clareza em seus objetivos e uma vez obtido os dados conclusivos proporcionará meios para se obter um diagnóstico e tratamento precoce aos acometidos de lesões prostáticas neoplásicas ou não, ampliando os serviços prestados para a saúde do homem e bem estar da população masculina e assim, diminuir os altos números de óbitos que ocorrem no Brasil anualmente devido ao câncer de próstata.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos de acordo com as solicitações do CEP SH.

Recomendações:

Não se aplica.

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-400
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC**



Continuação do Parecer: 1.721.202

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto não apresenta inadequações, ou impedimentos a realização do mesmo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_760560.pdf	08/08/2016 10:43:00		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	08/08/2016 10:39:13	Rodrigo Otávio Alves de Lima	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	08/08/2016 10:38:32	Rodrigo Otávio Alves de Lima	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_HU_UFSC.pdf	08/08/2016 10:37:20	Rodrigo Otávio Alves de Lima	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Plat_Brasil.pdf	08/08/2016 10:36:33	Rodrigo Otávio Alves de Lima	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANOPOLIS, 12 de Setembro de 2016

Assinado por:
Washington Portela de Souza
(Coordenador)

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-400
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br